

ФИТОЕСТРОГЕНИ: ЗДРАВНИ ПОЛЗИ И ВЪЗМОЖНИ НЕЖЕЛАНИ ЕФЕКТИ

Милка Нашар

*Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика,
Медицински университет – Варна*

PHYTOESTROGENS: HEALTH BENEFITS AND POSSIBLE ADVERSE EFFECT

Milka Nashar

*Department of Biochemistry, Molecular Medicine and Nutrigenomics,
Medical University of Varna*

РЕЗЮМЕ

Фитоестрогените са полифенолни нестероидни растителни съединения, за които е установено, че имат способността селективно да свързват естрогеновите рецептори и да проявяват естрогено-подобно или антиестрогеново действие. Консумацията на храни богати на фитоестрогени се асоциира с намален риск от сърдечно-съдови заболявания, остеопороза, диабет, хормон-зависим рак на гърдата и др. Все пак, някои учени алармират, че наред с благотворните си ефекти, фитоестрогените могат да причинят ендокринни нарушения. Настоящата обзорна статия обобщава съвременните научни данни за здравните ползи и нежеланите ефекти за човешкото здраве от консумацията на храни богати на фитоестрогени.

Ключови думи: фитоестрогени, менопауза, остеопороза, сърдечно-съдови заболявания, диабет, нежелани ефекти

ABSTRACT

Phytoestrogens are nonsteroidal plant polyphenolic compounds that are found to bind selectively estrogen receptors and thus to exert estrogen-like or anti-estrogen action. Consumption of phytoestrogens rich foods is associated with reduced risk of cardiovascular disease, osteoporosis, diabetes, hormone-dependent breast cancer, etc. However, some scientists have warned that along with the beneficial effects, phytoestrogens can cause endocrine disturbances. Present review summarizes the scientific evidences about health benefits and adverse effects of phytoestrogens consumption on the human health.

Keywords: phytoestrogens, menopause, osteoporosis, cardio-vascular diseases, diabetes, adverse effects

ВЪВЕДЕНИЕ

Фитоестрогените се дефинират като нестероидни съединения с растителен произход, структурно подобни на ендогенния 17β -естрадиол. Това подобие, обусловено от наличието на фенолен пръстен обяснява способността на фитоестрогените да се свързват с естрогеновите рецептори и да проявяват естрогеноподобно и антиестрогенно действие, в зависимост от типа клетки (13,54).

Естрогеноподобни субстанции се съдържат в над 300 растителни вида, но сравнително малка част от тях са значими за човека, влизайки в хранителния режим. Фитоестрогените могат да бъдат класифицирани в пет основни групи: изофлавонови, флавоноиди, стилбени, лигнани и куместани. Класификацията и по-значимите представители са представени на Таблица 1.

Табл. 1. Класификация, основни представители и източници на фитоестрогените

ФИТОЕСТРОГЕНИ			
КЛАС	ПОДКЛАС	ПРЕДСТАВИТЕЛИ	ИЗТОЧНИЦИ
Изофлавони	-	генистеин, даидзеин	Соя, червена детелина
Флавоноиди	Флаванони	нарингенин, хесперитин	Цитрусови плодове
	Флаваноли	катехини	Бобови, какао, зелен чай
	Флавони	апигенин	Червено-жълти плодове и зеленчуци
	Флаваноли	камферол, кверцетин	Праз лук, къдраво зеле
Стилбени	-	ресвератрол	Грозде, черна боровинка, черница
Лигнани	-	ентеролактон, ентеродиол	Житни растения
Куместани	-	куместрол	Семена от люцерна

Биологични ефекти на фитоестрогените и механизми, по които се осъществяват

Голяма част от биологичните ефекти на фитоестрогените се базират на способността им да се свързват с естрогеновите рецептори (ERs), поради своята структурна прилика с ендегенния 17 β -естрадиол (Фиг. 1). Въпреки че в сравнение с ендегенния лиганд повечето фитоестрогени имат слаб афинитет на свързване към ERs, научните данни сочат, че те имат разнообразни ефекти в организма, проявявайки естрогено-подобно или антиестрогеново действие. (39,40). Класическият път по който се медираат ефектите на природния естроген, е чрез активиране на два типа вътреклетъчни рецептори, ER α и ER β . ER α е основен подтип в тъканите на млечната жлеза и репродуктивните органи, а ER β се разпределя предимно в яйчници, простата, тестиси, далак, бели дробове, хипоталамус и тимус (35). Сравнително ниският афинитет на свързване към ER α определя слабите естрогеноподобни свойства на фитоестрогените, в сравнение с естрадиола, докато частичното анти-естрогеново действие би могло да се обясни с преференциалното им свързване с ER β (9,90).

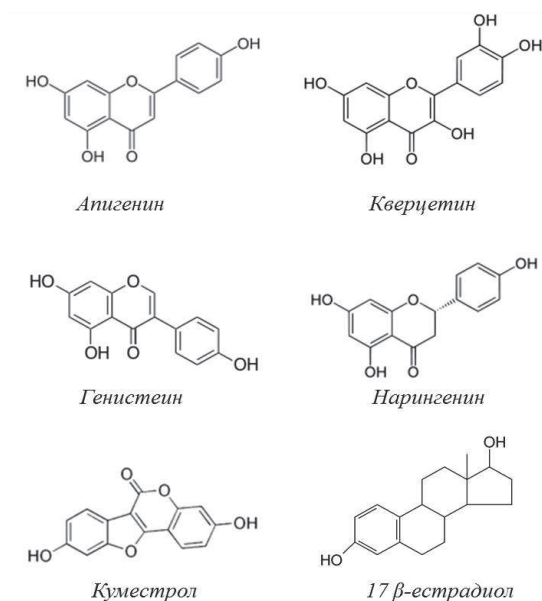
Фитоестрогените проявяват и разнообразни биологични активности, които не са медиранни от естрогеновите рецептори (17,49). Такъв например е инхибиторният им ефект върху митоген-индуцираната пролиферация, благодарение на който се разглеждат като потенциални противотуморни агенти (1,20). Освен това, проявяват присъщата на всички полифеноли антиоксидантна активност, както като хелатори и директно като редуктори, така и чрез активиране на транскрипционни фактори, свързани с експе-

сията на ензими от ендегенната антиоксидантна защита (37).

Менопауза и остеопороза

Менопаузата е естествен период в живота на жената, свързан с прекратяване репродуктивната функция на яйчниците-основен източник на естрогени във фертилна възраст. Менопаузата може да бъде и хирургично-индуцирана. Липсата на продукция и секреция на естрогени значително повишава риска от остеопороза, нарушения в липидния метаболизъм, сърдечно-съдови заболявания и т.н (77). Адаптирането на организма към намалените нива на естрогени е свързано с неприятни усещания, дължащи се на вазомоторни, неврологични и психологични, смущения, като горещи вълни и сърцебиене, промени в настроението, безпокойство и депресии, респективно (87).

Заместителната естрогенова терапия облекчава тези неприятни симптоми, но също така е и профилактика на сърдечно-съдови заболявания, остеопороза и на други последствия от настъпилите в организма биологични промени (27,60). Естрогеновите препарати обаче, имат и някои нежелани странични ефекти. Редица проучвания установяват, че те индуцират карциногенеза в млечната жлеза и матката. Хормоно-заместителната терапия може да повиши риска от естроген-зависим рак на гърдата и половите органи при жени с фамилен обремененост за тези заболявания (28). Освен това влияят върху някои серумни протеини, участващи в кръвосъсирването, поради което крият риск от тромбози (97). Счита се, че фитоестрогените имат същото протективно действие както естрогените, но без да проявяват изброените страничните ефекти (86).



Фиг. 1. Сравнение структурата на някои фитоестрогени и 17 β -естрадиол

Изофлавононът генистеин, съдържащ се в соята, е един от най-проучваните фитоестрогени, вероятно поради факта, че проявява най-висок афинитет на свързване с ERs (54,64). Установено е, че консумирането на големи количества соя, директно корелира с намаляване риска от хормон-зависими ракови заболявания сред източноазиатските народи. Генистеинът и другите изофлавонони могат до голяма степен да смекчат нежеланите последици от промените в хормоналния нива в организма в мено- и постменопауза (19). Половите хормони играят важна роля в поддържане на костната хомеостаза (81,91). Една от най-драматичните промени в организма, вследствие намалените нива на естрогени, е загубата на костно вещество и увеличаване риска от остеопороза. Засиленият изследователски интерес към изофлавононите е базиран върху данни разкриващи потенциала им да стимулират формирането на остеобластите и да инхибират резорбцията на костно вещество (21), както и да поддържат сравнително нормална костна плътност в овариетомирани плъхове (5). Установено е, че тези ефекти на генистеина, се дължат, от една страна на антиоксидантните му свойства и от друга на способността му да стимулира пролиферацията на остеобластите (42,99). Според едно проучване *in vitro*, ключова роля в остеокластогенезата играе ензимът топоизомераза II (98). Установено е, че генистеинът е инхибитор на този ензим (67) и вероятно това е един от механизми-

те, чрез които поддържа благоприятен за костната плътност баланс между продукцията и резорбцията на минерализираната тъкан в постменопауза. Ефектите на генистеина проявени *in vivo* и *in vitro* се потвърждават и в клинични наблюдения на жени в постменопауза. Диетата обогатена с изофлавонони намалява загубата на костни клетки (33,62). Освен соевите изофлавонони, за други фитоестрогени също е показано, че имат потенциал да се намесват благоприятно в механизмите на костната резорбция. По последни данни, ресвератролът и камферолът имат активиращ ефект върху остеобластната диференциация на плурипотентни мезенхимни стволови клетки (41,81).

Освен върху костната плътност соевите фитоестрогени ефикасно редуцират съпътстващи менопаузата оплаквания. Проведено е проучване сред 190 жени в менопауза, приемащи патентована хранителна добавка, обогатена със соеви изофлавонони. Отчетено е облекчаване на всички наблюдавани симптоми, като най-значителен е бил спадът в честотата на горещите вълни (2).

Кардиопротективен потенциал на фитоестрогените

Известно е, че 17 β -естрадиолът е мощен антиатеросклеротичен фактор и неговият дефицит се свързва с рязко нарастване на сърдечносъдовите инциденти сред жените в менопауза (19). Резултатите от проучванията върху действието на фитоестрогените и в частност генистеина върху сърдечносъдовата система са еднозначни. Улесняване на вазодилатацията чрез редуциране нивата на ендотелин-1 е установено при жени в постменопауза, вследствие консумацията на обогатена със соеви изофлавонони храна (4). Подобно на 17 β -естрадиол, този фитоестроген активира ендотелната азотно-окисна синтаза (eNOS), чрез механизми, в които не участват вътреклетъчните ERs (50,84). Факт е, че в сравнение с жените в репродуктивна възраст, рискът от сърдечносъдова болест при мъжете е по-голям. Проучване сред рискови мъже на средна възраст показва, че соевите изофлавонони приемани с храната увеличават значително нивата на липопротеините с висока плътност (HDL) (78). Тези данни потвърждават резултатите от *in vivo* изследвания върху хиперхолестеролемични и хипертензивни експериментални модели.

Натрупването в организма на продукти от липидната пероксидация създава условия за развитие на атеросклероза, инсулт и инфаркт на миокарда (7). Освен че потискат липогенезата, за фитоестрогените се съобщава, че имат изра-

зен антиатеросклеротичен и кардиопротективен ефект, намалявайки плазмените нива на оксидираните липопротеини с ниска плътност (LDL) в експериментални животни (42,43,94,95). В женски хипертензивни плъхове, генистеинът приложен в ниски дози се проявява като ефективен съдов протектор наравно с естрадиола, но за разлика от него без да засяга репродуктивната система (66).

Затлъстяване и диабет

Значителен брой проучвания при хора и експериментални животни сочат, че ERs са важни медиатори на действието на ендогенния естроген върху липидния и глюкозния метаболизъм (8). Естрогените могат да повлияват липидния метаболизъм както директно, чрез модулиране липогенезата, липолиза, така и индиректно, чрез повлияване процесите модулиращи апетита в ЦНС (16,48). Идеята за модулиращата роля на естрогените върху метаболитните функции е породена от наблюдението, че жени в постменопауза развиват висцерално затлъстяване и инсулинова резистентност в резултат на ниските естрогенови нива. В потвърждение е и фактът, че хормон-заместителната терапия води до редуциране на висцералната мастна тъкан (85). Естрогените играят важна роля в глюкозната хомеостаза и имат потенциала да подобряват инсулиновата чувствителност (30). Показано е, че стимулират поемането на глюкоза в инсулин-зависимите тъкани, чрез активиране на протеини от инсулиновия сигнален път, свързани с експресията и транслокацията на GLUT4 (63).

Научният интерес към влиянието на фитоестрогените върху зтлъстяване и диабет се свежда предимно до соевите изофлавоени. Този факт вероятно произтича от наблюдаваната ниската честота на затлъстяване и свързаните с него метаболитни нарушения при източно-азиатските популации, в чиято диета соята е характерен компонент. Епидемиологични проучвания показват, че при японци, живеещи в САЩ, честотата на диабет тип 2 се увеличава до четири пъти, в сравнение с жителите на Токио (24,25). Също така, няколко изследвания докладват, че консумацията на изофлавоени корелира с по-нисък индекс на телесна маса и по-високи нива на HDL при жени в постменопауза (31,32,34). Резултатите от две интервенции с участието на болни от диабет тип 2 суплементирани с храни обогатени с изофлавоени и лигнани респективно, показват абсолютно еднозначно значително подобряват инсулиновата чувствителност и липидния профил. И при двете кохорти са отчетени намаляване серумни-

те нива на глюкоза, гликиран хемоглобин и С-реактивен протеин (18,70). Тези данни разкриват потенциала на фитоестрогените, както в превенцията, така и в контрола на заболяването.

По отношение механизмите, по които фитоестрогените осъществяват благотворното си действие върху въглехидратния и липидния метаболизъм, редно е да се отбележи, че не винаги ERs са медиатори в тези ефекти. Като полифеноли те имат потенциала да се намесват в сигналните пътища на инсулин и глюкагон, чрез активиране на транскрипционни фактори модулиращи активността на ензими от двата типа метаболизъм (6,15,59,75). Известно е, че оксидативният стрес е в основата на патогенезата на диабета и в този смисъл, паралелно с естрогеноподобните свойства на фитоестрогените, трябва да имаме предвид и техния антиоксидантен потенциал (19).

Антипролиферативни свойства на фитоестрогените

Установено е, че някои фитоестрогени ефективно инхибират ензими свързани с клетъчната пролиферация, като тирозин-специфична протеин киназа (ТРК) и ДНК-топоизомераза, както и на ензима ароматаза, катализиращ превръщането на тестостерона в естрадиол (47,71,76).

Тирозин киназите са ензими от вътреклетъчните сигнални механизми, свързани с клетъчния растеж и диференциация, клетъчния метаболизъм и генната експресия. Установено е, че пролиферацията при тумор на яйчниците и млечната жлеза е в тясна връзка със сигналните механизми, медираните от ТРК-свързаните рецептори на епидермалния растежен фактор (EGFR) (1). Генистеинът модулира активирания от EGF сигнални пътища като инхибира активността на ТРК в млечни жлези на плъхове и редуцира количеството на EGFR в прицелните тъкани (47, 82). Въз основа на казаното до тук може да се твърди, че генистеинът има потенциал да потиска туморния растеж.

Противотуморните свойства на фитоестрогените могат да се дължат и на потенциала им да инхибират активността на топоизомераза II (38, 76,79). Този ензим участва в репликацията, транскрипцията и репарацията на ДНК и е една от прицелните точки в противотуморната терапия. Освен това, за генистеина е показано, че ефикасно потиска ангиогенезата в някои туморни модели (74,88).

Няколко изследвания *in vitro* потвърждават способността на наригенина да потиска действието на ароматазата (3,71,80). Заради това му свой-

ство бива обсъждан като надежден натурален терапевтик при естроген-зависимия рак на гърдата (60). Интересен е фактът, че ароматазно-инхибиторната активност на нарингенина се проявява само в ниските му концентрации, докато във високи той проявява естрогеноподобните си свойства (3).

Влияние върху ЦНС и поведението

Известно е, че естрогените имат невротрофични и невропротективни свойства и играят важна регулаторна роля в механизмите повлияващи поведението, болковата чувствителност и когнитивните процеси. Смята се, че те са протективен фактор срещу невродегенеративни разстройства (56).

Влиянието на фитоестрогените върху поведението, обучението и паметта при полово зрели и предпубертетни животни е цел на значителен брой изследвания. Като лиганди на естрогеновите рецептори, те могат да повлияват активността на определени полово-диференцирани зони в мозъка, както в биохимичен, така и в анатомичен аспект (11,45,46,73). Поради половите разлики в експресията на ERs в мозъка (29) е показано, че фитоестрогените се концентрират в по-голяма степен в мозъка на женски, отколкото на мъжки експериментални животни, въпреки еднаквата схема на хранене и почти еднаквата плазмена концентрация (14). Достатъчно експериментални данни сочат, че в мозъка фитоестрогените проявяват предимно естрогено-подобно действие. Така например, вследствие на богата с изофлавонови диета, мъжки плъхове, поставени в условия на стрес, реагират с нива на адренокортикотропина, съпоставими с тези при стресов отговор на неовариектомирани женски (45). Подкожно прилагане на генистеин и естрадиол върху кастрирани плъхове от двата пола води до стимулиране експресията на ензими от катехоламиновия синтезен път в мозъка, като ефектите на фитоестрогена са съизмерими с тези на хормона (65). Представят се данни, че генистеинът провокира чувството на тревожност, увеличена консумация на храна и течности и намаляване на теглото – ефекти, описани за естрогените (22,52). Известно е, че пространствената ориентация, обучението и паметта се контролират от полово диференцирани мозъчни структури. Докладвано е, че визуалната памет се повлиява благотворно от генистеин при женски, но не и при мъжки полово зрели, кастрирани плъхове (51), вероятно поради половите разлики в нивата на експресия на ERs в мозъка.

Заслужава да се отбележи фактът, че фитоестрогените проявяват протективно действие върху допаминергичните неврони по различни механизми (57,93,101). Намаляване нивата на допамин в мозъка се асоциира с етиологията на болестта на Паркинсон. Ето защо на фитоестрогените се гледа като на ефективно природно средство в превенцията на заболяването. Също така, за флаванона нарингенин е показано, че е ефективен инхибитор на ацетилхолин естеразата, което предполага потенциала му в превенцията и на други невродегенеративни заболявания (36). Способността на фитоестрогените да преминават кръвно-мозъчната бариера и съответно след метаболизиране да се разпределят селективно в сравнително големи количества в мозъка (61,100), обяснява активното им влияние върху ЦНС.

Нежелани ефекти на фитоестрогените

Фитоестрогените попадат във фокуса на научния интерес за първи път в средата на 20 век, когато се появяват данни за евентуалните им увреждащи ефекти върху репродуктивната система на овце, отглеждани на пасища от червена дегелина (10). Причините за необичайно високите нива на безплодие, спонтанни аборт, и репродуктивни нарушения в тяхното потомство са били приписани на изофлавоните, съдържащи се в големи количества в детелината. Десетилетия по-късно тези съмнения се затвърждават от аналогичен случай при гепарди, поставени на диета на соева основа (83). Тези данни поражда въпроса, дали приемът на изофлавонови може да крие риск за човешкото репродуктивно здраве (72). Изофлавоните са може би най-изследваните полифеноли, но въпреки това въпросът за техните нежелани ефекти при човека е все още неизяснен поради противоречивите данни, докладвани от изследвания при хора и експерименти с лабораторни животни. Тъй като изофлавоните свързват ERs с относително висок афинитет, някои изследователи и клиницисти изразяват загриженост, че приемът им в големи количества може да увеличи риска от естроген-зависим рак на гърдата. От друга страна, традиционно ниската честота на заболяването в Азия предполага по-скоро протективен ефект на соевите фитоестрогени (44). Научните данни сочат, че в зависимост от приложения анализ, нивата на ендогенния естроген в момента на изследването и вида на тумора, генистеинът може да действа едновременно като пролиферативен и антипролиферативен агент (12,89). Фармакологични изследвания върху доза-зависимите ефекти на генисте-

ина показват, че във високи дози фитоестрогенът ефективно инхибира пролиферацията на ER-положителни и ER-отрицателни клетки на рак на гърдата, докато ниските, физиологични дози стимулират туморния растеж (26,58,92). Този парадокс не е изключение само за генистеина, тъй като за селективните естроген-рецепторни модулатори (SERMs), използвани за лечение на рак на гърдата, също са установени такива ефекти в зависимост от дозата и вида тъкани, в които действат (68).

Въпросът, който буди най-голям интерес, е крие ли риск консумацията на храни богати на фитоестрогени в детска и предпубертетна възраст. Някои учени алармират, че излагането на развиващия се организъм на високи нива на фитоестрогени може да доведе до ендокринни смущения в зряла възраст. Данните от изследване сред жени от кавказката раса сочат, че жизнена история свързана с висока консумация на соево мляко и соеви продукти се асоциира с увеличаване на плътност на гърдите (един от рисковите фактори за рак на гърдата) в периода на пременопауза (55). Тези данни обаче, не се потвърждават от подобно изследване в Китай, според което консумацията на соя от ранна детска възраст директно корелира с редуциран риск от рак на гърдата (44). В потвърждение на тези резултати са и данните от епидемиологично проучване при американци от азиатски произход, въз основа на които авторите стигат до заключението, че консумацията на соя в ранна детска и в предпубертетна възраст предпазва от развитието на рак на гърдата в зряла възраст (96).

Експерименталните данните от ефектите на изофлавононите прилагани в перинаталния период също са разнопосочни. Например, новородени плъхове от майки, консумирали генистеин по време на бременността и кърменето, са по-малко предразположени към развитие на тумори на гърдата (23). Друго проучване обаче, установява, че подкожно приложение на 5 или 50 мг/кг генистеин при плъхове в неонатална възраст, води до малформации в морфологията на млечните жлези при животните третирани с високата доза. При останалите животни е установено, че по-ниската доза стимулира развитието на млечните жлези, което авторите считат за фактор редуциращ риска от рак в зряла възраст (69). Този бифазен ефект на генистеин върху развитието и диференциацията на гърдната тъкан показва, че дозата може да бъде важен фактор при оценка на риска от прилагането на фитоестрогените.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Безспорни са научните доказателства, че диетата богата на фитоестрогени има благоприятен ефект върху много аспекти на човешкото здраве. Те се обсъждат като алтернатива на естроген заместителната терапия, заради естествения си произход и потенциала си да облекчават ефективно симптомите на менопаузата, без риск от страничните ефекти на синтетичните естрогени. Въпросът за вероятния риск от консумацията им в големи количества все още няма категорично еднозначен отговор. Все пак, наличните в литературата данни предполагат, че фактори като възраст и здравословното състояние трябва да се взимат под внимание при консумирането на храни богати на фитоестрогени, особено на изофлавонони.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawa H, Watanabe S, Itou N et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinase. *J Biol Chem.* 1987;262: 5592-5595.
2. Albert A, Altabre C, Baró F, Buendía E, Cabero A, Cancelo M J et al. Efficacy and safety of a phytoestrogen preparation derived from *Glycine max* (L.) Merr in climacteric symptomatology: A multicentric, open, prospective and non-randomized trial. *Phytomed.* 2002;9 (2): 85-92.
3. Almstrup K, Fernandez MF, Petersen JH, Olea N, Skakkebaek NE, Leffers H. Dual effects of phytoestrogens result in U-shaped dose-response curves. *Env Health Persp.* 2002;110 (8): 743-748.
4. Altavilla D, Crisafulli A, Marini H, Esposito M, D'anna R et al. Cardiovascular effects of the phytoestrogen genistein. *Cur Med Chem.* 2004;2 (2): 179-186
5. Arjmandi BH. The role of phytoestrogens in the prevention and treatment of osteoporosis in ovarian hormone deficiency. *J Am Coll Nutr* 2001;20 (5): 398S-402S.
6. Banz WJ, Davis J, Peterson R, Iqbal MJ. Gene expression and adiposity are modified by soy protein in male Zucker diabetic fatty rats. *Obes Res* 2004; 12: 1907-1913
7. Baohai S and Heinecke JW. HDL, lipid peroxidation, and atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2009; 50 (4): 599-601.

8. Barros RP and Gustafsson JA. Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell Metab.* 2011;14(3):289-99
9. Benassayag C, Perrot-Appianat M, Ferre F. Phytoestrogens as modulators of steroid action in target cells. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002;777:233-248
10. Bennetts HW, Underwood EJ, Shier FL. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Aust. Vet. J.* 1946; 22:2.
11. Bodo C, Kudwa AE, Rissman EF. Both estrogen receptor-alpha and beta are required for sexual differentiation of the anteroventral periventricular area in mice. *Endocrinology* 2006;147 (1): 415-420.
12. Bouker KB, Hilakivi-Clarke L. Genistein: does it prevent or promote breast cancer? *Environ Health Perspect.* 2000; 108:701-708
13. Casanova M, You L, Gaido KW, Archibeque-Engle S, Janszen DB, Heck HA. Developmental effects of dietary phytoestrogens in Sprague-Dawley rats and interactions of genistein and daidzein with rat estrogen receptors alpha and beta in vitro. *Toxicol Sci.* 1999;51(2):236-44.
14. Chang HC. Churchwell MI., Delclos KB., Newbold RR., Doerge DR., Mass spectrometric determination of genistein tissue distribution in diet-exposed Sprague-Dawley rats. *J Nutr* 2000;130: 1963-1970.
15. Choi MS, Jung UJ, Yeo J, Kim MJ, Lee MK. Genistein and daidzein prevent diabetes onset by elevating insulin level and altering hepatic gluconeogenic and lipogenic enzyme activities in non-obese diabetic (NOD) mice. *Diabetes Metab Res Rev* 2008; 24: 74-81
16. Cooke PS, Naaz A. Role of estrogens in adipocyte development and function. *Exp Biol Med (Maywood).* 2004;229(11):1127-35.
17. Cos P, De Bruyne T, Apers S, Vanden Berghe D, Pieters L, Vlietinck AJ. Phytoestrogens: recent developments. *Planta Med.* 2003;69:589-599
18. Curtis PJ, Sampson M, Potter J, Dhatariya K, Kroon PA, Cassidy A. Chronic ingestion of flavan-3-ols and isoflavones improves insulin sensitivity and lipoprotein status and attenuates estimated 10-year CVD risk in medicated postmenopausal women with type 2 diabetes: a 1-year, double-blind, randomized, controlled trial. *Diabetes Care* 2012; 35: 226-232
19. Dixon RA. Phytoestrogens. *Annu Rev Plant Biol* 2004;55: 225-261
20. Dubey RK, Gillespie DG, Imthurn B, Rosselli M, Jackson EK, Keller PJ. Phytoestrogens inhibit growth and MAP kinase activity in human aortic smooth muscle cells. *Hypertension.* 1999;33:177-182
21. Ebisawa H and Koshihara Y. Inhibitory effects of soy-isoflavones on osteoclastogenesis in human bone marrow cell culture. *Soy Protein Res* 2001;4: 129-134.
22. Flynn KM, Ferguson SA, Delclos KB, Newbold RR. Effects of genistein exposure on sexually dimorphic behaviors in rats. *Toxicol Sci* 2000;55: 311-319.
23. Fritz WA, Coward L, Wang J, Lamartiniere CA. Dietary genistein: perinatal mammary cancer prevention, bioavailability and toxicity testing in the rat. *Carcinogenesis.* 1998; 19:2151-2158.
24. Fujimoto WY., Leonetti DL, Kinyoun JL, Newell-Morris L, Shuman WP, Stolov WC, Wahl PW. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance among second-generation Japanese-American men. *Diabetes* 1987;36:721-729.
25. Fujimoto WY, Leonetti DL, Bergstrom RW, Kinyoun JL, Stolov WC., Wahl PW Glucose intolerance and diabetic complications among Japanese-American women. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1991;13:119-129.
26. Gaete L, Tchernitchin AN, Bustamante R, Villena J, Lemus I, Gidekel M, Cabrera G, Carrillo O. Genistein selectively inhibits estrogen-induced cell proliferation and other responses to hormone stimulation in the prepubertal rat uterus. *J Med Food.* 2011;14(12):1597-603
27. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, Monteleone P, Benussi C, Bevilacqua G, Genazzani AR. Postmenopausal femur bone loss: effects of a low dose hormone replacement therapy, *Maturitas* 2003;45:175-183.
28. Genazzani AR, Gadducci A, Gambacciani M. Controversial issues in climacteric medicine II. Hormone replacement therapy and cancer.

- International Menopause Society Expert Workshop. *Climacteric* 2001;4(3):181-93.
29. Gillies GE and McArthur S. Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines. *Pharmacol Rev.* 2010; 62(2): 155–198
30. Godsland IF. Oestrogens and insulin secretion. *Diabetologia* 2005;48:2213–2220.
31. Goodman-Gruen D, Kritz-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *J. Nutr.* 2001;131: 1202–1206.
32. Goodman-Gruen D, Kritz-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake and body composition in postmenopausal women. *Menopause* 2003;10:427–432
33. Greendale GA, Fitzgerland G, Huang MH, Sternfeld B, Gold E, Seeman T, Sherman S, Sowers M. Dietary soy izoflavones and bone mineral density: results from the study of women's health across the nation. *Am J Epidemiol* 2002;155: 746-754
34. Guthrie JR, Ball M, Murkies A, Dennerstein L. Dietary phytoestrogen intake in mid-life Australian-born women: relationship to health variables. *Climacteric* 2000;3:254–261.
35. Hall JM, Couse JF, Korach KS. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem.* 2001;276:36869–36872
36. Heo HJ. Naringenin from Citrus junos has an inhibitory effect on acetylcholinesterase and a mitigating effect on amnesia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004;17: 151-157.
37. Jungbauer A, Medjakovic S. Phytoestrogens and the metabolic syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;139:277-89
38. Kaufmann WK. Human topoisomerase II function, tyrosine phosphorylation and cell cycle checkpoints. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;217: 327-334.
39. Korach KS. Insights from the study of animals lacking functional estrogen receptor. *Science.* 1994;266:1524–1527
40. Kuiper GJM, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology* 1998;139 (10): 4252–4263.
41. Kutleša Z, Budimir Mršić D. Wine and bone health: a review. *J Bone Miner Metab.* 2015. DOI 10.1007/s00774-015-0660-8. [Epub ahead of print]
42. Lee CH, Jeong TS, Choi YK, Hyun BH, Oh GT et al. Anti-atherogenic effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, associated with hepatic ACAT and aortic VCAM-1 and MCP-1 in high cholesterol-fed rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;284: 681-688.
43. Lee CS, Kwon SJ, Na SY, Lim SP, Lee JH. Genistein supplementation inhibits atherosclerosis with stabilization of the lesions in hypercholesterolemic rabbits. *J Korean Med Sci* 2004; 19: 656-661.
44. Lee HP, Gourley L, Duffy SW, Esteve J, Lee J, Day NE. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. *Lancet.* 1991; 337:1197–1200. [
45. Lephart ED, Rhee RW, Setchell KD, Bu LH, Lund TD. Estrogens and phytoestrogens: brain plasticity of sexually dimorphic brain volumes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;85 (2-5): 299-309.
46. Lewis RW, Brook N, Milburn GM, Soames A, Stone S et al. The effects of the phytoestrogen genistein on the postnatal development of the rat. *Toxicol Sci* 2003;71: 74-83.
47. Li Y, Mi C, Wu YZ, Yang SF, Yang ZQ. The effects of genistein on epidermal growth factor receptor mediated signal transduction pathway in human ovarian carcinoma cells lines SKOV3 and its xenograft in nude mice. *Chinese J Pathol* 2004;33 (6): 546-549.
48. Liang M, Ekblad E, Lydrup ML, Nilsson BO. Combined lack of estrogen receptors alpha and beta affects vascular iNOS protein expression. *Cell Tissue Res* 2003;313 (1): 63-70.
49. Limer JL, Parkes AT, Speirs V. Differential response to phytoestrogens in endocrine sensitive and resistant breast cancer cells in vitro. *Int J Cancer.* 2006;119:515–521
50. Liu D, Homan LL, Dillon JS. Genistein acutely stimulates nitric oxide synthesis in vascular endothelial cells by a cyclic adenosine 5'-monophosphate-dependent

- mechanism. *Endocrinology* 2004;145 (12): 5532-5539.
51. Lund T, West T, Tian LY, Bu L, Simmons D et al. Visual spatial memory is enhanced in female rats (but inhibited in males) by dietary soy phytoestrogens. *BMC Neurosci* 2001;2: 20
52. Lund TD and Lephart ED. Manipulation of prenatal hormones and dietary phytoestrogens during adulthood alters the sexually dimorphic expression of visual spatial memory. *BMC Neurosci* 2001;2: 21.
53. Manas ES, Xu ZB, Unwalla RJ, Somers WS. Understanding the selectivity of genistein for human estrogen receptor-beta using X-ray crystallography and computational methods. *Structure*. 2004;12(12):2197-207.
54. Manash C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004;79: 727-747.
55. Maskarinec G, Takata Y, Franke AA, Williams AE, Murphy SP. A 2-year soy intervention in premenopausal women does not change mammographic densities. *J Nutr*. 2004; 134:3089–3094.
56. McEwen B. Estrogen effects on the brain: much more than sex. *Karger Gazette* 2003;66: 10-12.
57. Mercer LD, Kelly BL, Horne MK, Beart PM. Dietary polyphenols protect dopamine neurons from oxidative insults and apoptosis: investigations in primary rat mesencephalic cultures. *Biochem Pharm* 2005;69 (2): 339-345.
58. Messina M, Nagata C, Wu AH. Estimated Asian adult soy protein and isoflavone intakes. *Nutr Cancer*. 2006; 55:1–12.
59. Mezei O, Banz WJ, Steger RW, Peluso MR, Winters TA, Shay N. Soy isoflavones exert antidiabetic and hypolipidemic effects through the PPAR pathways in obese Zucker rats and murine RAW 264.7 cells. *J Nutr* 2003; 133: 1238-1243
60. Middleton ET, Steel SA. The effects of short-term hormone replacement therapy on long term bone mineral density. *Climacteric* 2007;10:257–263
61. Mohsen MA, Marks J, Kuhnle G, Rice-Evans C, Moore K, Gibson G, Debnam E, Srai SK. The differential tissue distribution of the citrus flavanone naringenin following gastric instillation. *Free Radic Res* 2004;38 (12): 1329-1340.
62. Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, Gaudio A, Lasco A. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Bone Miner Res* 2002;17: 1904-1912.
63. Moreno M, Ordoñez P, Alonso A, Díaz F, Tolivia J, González C. Chronic 17 beta-estradiol treatment improves skeletal muscle insulin signaling pathway components in insulin resistance associated with aging. *Age (Dordr.)* 2010;32:1–13
64. Morito K, Hirose T, Kinjo J, Hirakawa T, Okawa M, Nohara T et al. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta. *Biol Pharm Bull*. 2001;24(4):351-6.
65. Nashar M, Vlaskovska M, Bozhilova-Pastirova A, Kasakov L. Behavioral and immunohistochemical investigations of the effects of phytoestrogens on pain, analgesia, and inflammation: gender dependency. *Neurophysiology* 2006; 38 (4): 350-353
66. Nilsson S, Makela S, Eckardt T, Tujague M, Thomsen J, Andersson et al. Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev* 2001;81: 1535-1565.
67. Okura A, Arakawa H, Oka H, Yoshinari T, Monden Y. Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12]Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988;157(1):183-9.
68. Oseni T, Patel R, Pyle J, Jordan VC. Selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens. *Planta Med*. 2008; 74:1656–1665.
69. Padilla-Banks E, Jefferson WN, Newbold RR. Neonatal exposure to the phytoestrogen genistein alters mammary gland growth and developmental programming of hormone receptor levels. *Endocrinology*. 2006; 147:4871–4882
70. Pan A, Sun J, Chen Y, Ye X, Li H, Yu Z, Wang Y, Gu W, Zhang X, Chen X, Demark-Wahnefried W, Liu Y, Lin X. Effects of a flaxseed-derived lignan supplement in type

- 2 diabetic patients: a randomized, double-blind, cross-over trial. *PLoS One* 2007; 2:e1148
71. Papiez MA. Influence of naringenin on the activity of enzymes participating in steroidogenesis in male rats. *Rocz Akad Med Bialymst.* 2004;49 Suppl 1:120-2.
72. Patisaul HB and Jefferson W. The pros and cons of phytoestrogens. *Front Neuroendocrinol.* 2010;(4): 400–419.
73. Patisaul HB, Fortino AE, Polston EK. Neonatal genistein or bisphenol-A exposure alters sexual differentiation of the AVPV. *Neurotoxicol Teratol* 2006;28 (1): 111-118.
74. Piao M, Mori D, Satoh T, Sugita Y, Tokunaga O.. Inhibition of endothelial cell proliferation, in vitro angiogenesis, and the down-regulation of cell adhesion-related genes by genistein combined with a cDNA microarray analysis. *Endothelium.* 2006;13 (4): 249-266.
75. Prasad K. Suppression of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression by secoisolariciresinol diglucoside (SDG), a new antidiabetic agent. *Int J Angiol* 2002; 11: 107-109
76. Ravindranath MH, Muthugounder S, Presser N, Viswanathan S. Anticancer therapeutic potential of soy isoflavone genistein. *Adv Exp Med Biol* 2004;546: 121-165.
77. Riggs BL, Khosla S, Melton III LJ. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men, *J Bone Miner Res* 1998;13:763–773
78. Sagara M, Kanda T, Jeleker MN, Teramoto T, Armitage L, Birt N et al. Effects of dietary intake of soy protein and isoflavones on cardiovascular disease risk factors in high risk, middle-aged men in Scotland. *J Am Coll Nutr* 2004;23 (1): 85-91.
79. Salti GI, Grewal S, Mehta RR, Das Gupta TK, Boddie AW Jr, Constantinou AI. Genistein induces apoptosis and topoisomerase II-mediated DNA breakage in colon cancer cells. *Eur J Cancer* 2000;36 (6): 796-802.
80. Sanderson T, Hordijk J, Denison MS, Springsteel MF, Nantz MH, Van Der Berg M. Induction and inhibition of aromatase (CYP 19) activity by natural and synthetic flavonoids compounds in H295R human adrenocortical carcinoma cells. *Toxicol Sci* 2004;82 (1): 70-79.
81. Schilling T, Ebert R, Raaijmakers N, Schütze N, Jakob F. Effects of phytoestrogens and other plant-derived compounds on mesenchymal stem cells, bone maintenance and regeneration. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;139:252-61.
82. Schultze-Mosgau MH, Dale IL, Gant TW, Chipman JK, Kerr DJ, Gescher A. Regulation of c-fos transcription by chemopreventive isoflavonoids and lignans in MDA-MB-486 breast cancer cells. *Eur J Cancer* 1998;34 (9): 1425-1431.
83. Setchell KKD, Gosselin SSJ, Welsh MMB, Johnston JJO, Balistreri WWF, Kramer LLW, Dresser BBL, Tarr MMJ. Dietary estrogens - a probable cause of infertility and liver disease in captive cheetahs. *Gastroenterology.* 1987; 93:225–233
84. Siriviriyakul P, Khemapech S, Monsiri K, Patumraj S. The vascular effect of genistein: what is the mechanism, nitric oxide or PGI2? *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;34 (1-2): 97-101.
85. Sites CK, Brochu M, Tchernof A, Poehlman ET. Relationship between hormone replacement therapy use with body fat distribution and insulin sensitivity in obese postmenopausal women. *Metabolism.* 2001;50(7):835-40.
86. Song WO, Chun OK, Hwang I, Shin HS, Kim BG, Kim KS et al. Soy isoflavones as safe functional ingredients. *J Med Food.* 2007;10:571–580.
87. Spelsberg TC, Subramaniam M, Riggs BL, Khosla S. The actions and interactions of sex steroids and growth factors/cytokines on the skeleton. *Mol Endocrinol* 1999;13:819–828
88. Su SJ, Yeh TM, Chuang WJ, Ho CL, Chang KL, Cheng HL et al. The novel targets for anti-angiogenesis of genistein on human cancer cells. *Biochem Pharmacol* 2005;69 (2): 307-318.
89. Thomas P, Dong J. Binding and activation of the seven-transmembrane estrogen receptor GPR30 by environmental estrogens: a potential novel mechanism of endocrine

- disruption. J. Steroid Biochem. Mol Biol. 2006; 102:175–179.
90. Tuohy PG. Soy infant formula and phytoestrogens. J Paediatr Child Health. 2003;39:401–405
91. Wang Q, Nicholson PH, Suuriniemi M, Lyytikäinen A, Helkala E, Alen M, Suominen H, Cheng S. Relationship of sex hormones to bone geometric properties and mineral density in early pubertal girls. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(4):1698-703
92. Wang TT, Sathyamoorthy N, Phang JM. Molecular effects of genistein on estrogen receptor mediated pathways. Carcinogenesis. 1996; 17:271–275
93. Wang X, Chen S, Ma G, Ye M, Lu G. Genistein protects dopaminergic neurons by inhibiting microglial activation. Neuroreport 2005;16 (3): 267-270.
94. Wilcox LJ, Borradaile N, De Dreu LE, Huff MW. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. J Lipid Res 2001;42: 725-734.
95. Wood N. Hepatolipidemic effects of naringenin in high cornstarch-versus high coconut oil-fed rats. J Medicinal Food 2004;7 (3): 315-319.
96. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Pike MC. Epidemiology of soy exposures and breast cancer risk. Br J Cancer. 2008; 98:9–14.
97. Wu O. Postmenopausal hormone replacement therapy and venous thromboembolism. Gend Med. 2005;2 Suppl A:S18-27
98. Yamagishi T, Otsuka E, Hagiwara H. Reciprocal control of expression of mRNAs for osteoclast differentiation factor and OPG in osteogenic stromal cells by genistein: evidence for the involvement of topoisomerase II in osteoclastogenesis. Endocrinology 2001;142 (8): 3632-3637.
99. Yamaguchi M. Isoflavone and bone metabolism: its cellular mechanism and preventive role in bone loss. J Health Sci 2002;48: 209-222.
100. Youdim KA, Dobbie MS, Kuhnel G, Proteggente AR, Abbot NJ, Rice-Evans C. Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: in vitro studies. J Neurochem. 2003;85 (1): 180-192.
101. Zbarsky V, Datla KP, Parkar S, Rai DK, Aruoma OI, Dexter DT. Neuroprotective properties of the natural phenolic antioxidants curcumin and naringenin but not quercetin in a 6-OHDA model of Parkinson's disease. Free Radical Res 2005;39 (10): 1119-1125.

Адрес за кореспонденция:

Милка Аспарухова Нашар
Катедра по биохимия, молекулна медицина и
нутригеномика
Медицински университет – Варна
ул. Марин Дринов №55
9002, Варна, България
e-mail: milka.nashar@mu-varna.bg